# グラファイトカーボンを含む Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC キットおよびトルエンを用いたホウレン草中の平面構造を持つ農薬回収率の最適化

アプリケーションノート

食品安全


## 著者

Limian Zhao, Joan Stevens
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA



## 概要

本アプリケーションノートでは、色素のある果実および野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC キットを使用して、ホウレン草中の農薬分析の分散固相抽出 (SPE) の手順でトルエン添加を行った場合の影響について解説します。マトリックスから高濃度の色素を除去するには、分散 SPE キットにグラファイトカーボンブラック (GCB) の使用が必要です。しかし、それによって、平面構造を持つ農薬も保持されてしまい、回収率と精度が悪くなります。LC/MS/MS または GC/MS によりオリジナルの AOAC メソッドで 8 種類の農薬の検出を行ったところ、結果は芳しくなく、回収率は 20 ～ 60 % になり相対標準偏差 (RSD) は 15 % を超えました。修正を加えた AOAC メソッドでは、一定量のトルエン (アセトニトリル (ACN) 抽出物/トルエン 8:3) を分散 SPE クリーンアップチューブに加えました。その結果、平面構造を持つ農薬の抽出効率が大幅に向上しました。修正した AOAC メソッドを使用すると、8 種類の農薬の回収率は 50 ～ 100 % に、RSD は 10 % 未満にそれぞれ大きく向上しました。ただし、トルエンの添加により、最終サンプルにより多くのマトリックス不純物が導入されてしまい、元々は良い結果を示していた農薬に問題が発生しました。そのため、修正した AOAC メソッドでオリジナルの AOAC メソッドを単純に置き換えることはできませんが、高濃度の色素を含むマトリックスの農薬分析において、GCB の影響を受ける農薬に対しては修正した AOAC メソッドは極めて有効です。


Agilent Technologies

## はじめに

AOAC の QuEChERS (quick (高速)、 easy (簡単)、 cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (堅牢)、safe (安全)) メソッドは、USDA の科学者が導入して以来、食品に含まれる農薬の分析に広く応用されています。[1 ～ 3] このメソッドには、抽出および分散 SPE クリーンアップという 2 つの手順が含まれます。抽出の手順では、このメソッドは、バッファ入りアセトニトリル (1 % HAc) 抽出を行った後、無水硫酸マグネシウム ($MgSO_4$) を使用してサンプルから水分を塩析し、液液分配を促進します。その後、極性有機酸と他の成分を除去する一級二級アミン (PSA) と抽出液中の水分を減らす無水硫酸マグネシウムを使用して、分散固相抽出 (分散 SPE) によりクリーンアップを行います。溶媒を混合し、遠心分離したのち、上澄み液を分析に使用します。

さまざまな食品マトリックスにおいて、分散 SPE クリーンアップの手順を適した方法に変更する必要があります。一般的な果実と野菜の場合、1 mL の ACN 抽出液あたり、50 mg の PSA と 150 mg の硫酸マグネシウムをクリーンアップに使用して、極性有機酸、糖類や脂質、余分な水分を除去します。色素のある果実および野菜用のキットには、1 mL の ACN 抽出液あたり、PSA と硫酸マグネシウムの他に、50 mg の GCB が含まれ、クロロフィルおよびカロチノイドなどの色素を除去します。色素や脂質を含む果実や野菜の場合、1 mL の ACN 抽出液あたり 50 mg の C18 が PSA および $MgSO_4$ と共に追加され、脂質とステロールを除去します。このように、分析対象の農薬を正しく分析するためには、食品のマトリックスの性質に応じて適切な分散 SPE キットを選択する必要があります。

以前の実験で、リンゴ中の代表的な農薬群について、LC/MS/MS および GC/MS を使用して、一般的な果実と野菜用のサンプリーク QuEChERS AOAC バッファ入り AOAC 抽出キットおよび分散 SPE キットの優れた性能を実証しました。[4、5] 色素のある果実および野菜用のサンプリーク QuEChERS AOAC キットでは、ホウレン草を選択し、分散 SPE キットの抽出と性能を評価します。GCB を分散 SPE に加えて、クロロフィルやカロチノイドなどの高濃度の色素を除去しました。これらの色素は、マトリックス効果を強め、より多くの干渉物を導入する原因となります。逆に、GCB は、チアベンダゾール、クロロタロニル、クマホス、シプロジニルなどの平面構造を持つ農薬の著しいロスの原因にもなります。[3、6] そのため、GCB の使用が推奨されるのは、平面構造を持つ農薬が分析対象ではない場合です。これは、色素を含むマトリックスのクリーンアップに対する GCB の有用性を大きく制限します。以前の GCB SPE カラム抽出では [7]、GCB カラムを通して農薬を溶出するためにトルエンを含む溶媒をよく使用しました。GCB-NH2 [8]、GCB-PSA [9]、および GCB SAX-PSA [10] を通して、MRM で農薬を溶出する際には、ACN/トルエン (3:1) の混合物質を使用しました。この実験では、QuEChERS の 2 番目の手順の分散 SPE クリーンアップにおいてトルエンを ACN 抽出物に添加しました。ACN 抽出液とトルエンの比率が 8:3 のときに回収率が最大となり (50 % ～ 300 % 以上)、8 種類の GCB 保持農薬に対して、優れた精度 (< 10 % RSD) を得ました。ただし、トルエンを添加すると、最終抽出サンプルにマトリックス不純物が入り、トルエン未添加時によい結果が得られる一部の農薬に悪影響があるため、回収率と精度が低下する点に注意が必要です。

## 実験

### 試薬および化学薬品類

使用した試薬および溶媒は、すべて HPLC グレードまたは分析グレードのものです。メタノール (MeOH) とトルエンは、Honeywell 社 (米国ミシガン州ムスカゴン)、アセトニトリル (ACN)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、および氷酢酸 (HAc) は、Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス) のものです。酢酸アンモニウム ($NH_4OAc$) は Fisher Chemicals 社 (米国ニュージャージー州フェアローン) のものです。ギ酸 (FA) は、Fluka 社 (ドイツ Sleinheim) のものを使用しました。農薬標準試料と内部標準のリン酸トリフェニル (TPP) は、Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス)、ChemService 社 (米国ペンシルバニア州ウェストチェスター)、Ultra 社 (米国ロードアイランド州ノースキングストン)、または AlfaAesar 社 (米国マサチューセッツ州ワードヒル) から購入しました。

### 溶液と標準試料

19.27 g の $NH_4OAc$ 粉末を 250 mL のミリ Q 水に溶かし、氷酢酸で pH を 5 に調整し、1 M 酢酸アンモニウム pH 5 保存液を作成しました。この溶液を 4 °C で保存しました。200 mL のメタノールと 800 mL のミリ Q 水を混合し、5 mL の 1M 酢酸アンモニウム pH 5 を加え、十分に混合し、5 mM 酢酸アンモニウム pH 5 を含むメタノール/$H_2O$ (20:80) を作成しました。5 mL の 1 M 酢酸アンモニウム pH 5 保存液を 1 L の ACN に加えて十分混合し、超音波振とう器に 5 分かけて、5 mM 酢酸アンモニウムを含む ACN 溶液を用意しました。10 mL の氷酢酸を 1 L の ACN に加えて十分混合し、1 % HAc を含む ACN 溶液を用意しました。

標準試料および内部標準 (IS) 保存液 (0.5 mg/mL のカルベンダジム以外、すべて 2.0 mg/mL) は、それぞれ、メタノール、0.1 % ギ酸の ACN 溶液、または DMSO 中で作成し、–20 °C で保存しました。1.5、7.5、および 30 µg/mL の 3 種類の QC スパイク溶液を、1:1 の ACN/$H_2O$ (ギ酸 0.1 %) で毎日新たに用意しました。マトリックスブランク抽出液の LC/MS/MS 検量線を用意するため、ギ酸 0.1 % を含む 1:1 ACN/$H_2O$ 中の標準スパイク溶液 10 µg/mL を適切な希釈によって作成しました。

ACN (ギ酸 0.1 %) 中の 2.5 µg/mL 標準溶液を使用して、適切な希釈によって、マトリックスブランク抽出液の GC/MS 検量線を準備しました。1:1 の ACN/$H_2O$ (ギ酸 0.1 %) 内に 15 µg/mL の TPP IS スパイク溶液を作成しました。

## 装置と薬剤

Agilent 1200 シリーズ HPLC、ダイオードアレイ検出器搭載 (Agilent Technologies Inc.、米国)

Agilent 6410 トリプル四重極 MS/MS システム、エレクトロスプレーイオン化機能搭載 (Agilent Technologies Inc.、米国)

Agilent ガスクロマトグラフ (Agilent Technologies Inc.、米国)

Agilent 5975C 質量分析計 (Agilent Technologies Inc., 米国)

Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC 抽出キット、部品番号 5982-5755、および色素のある果実と野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC SPE キット、部品番号 5982-5222 および 5982-5258 (Agilent Technologies Inc.、米国)

CentraCL3R 遠心分離機 (Thermo IEC 社、米国)

溶媒ボトルトップディスペンサ (VWR 社、米国)

Eppendorf 微量遠心分離機 (Brinkmann Instruments 社、米国)

## 機器設定

**HPLC 条件**

| | |
|---|---|
| カラム: | Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニル-ヘキシルカラム、3.0 mm × 150 mm、3.5 µm (部品番号 959963-312) |
| 流量: | 0.3 mL/min |
| カラム温度: | 30 °C |
| 注入量: | 10 µL |
| 移動相: | A:20:80 メタノール/$H_2O$ 内の 5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0<br>B:ACN 内の 5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0 |
| ニードル洗浄: | 1:1:1:1 ACN/メタノール/IPA/$H_2O$、0.2 % ギ酸を含む |

グラジエント:

| 時間 | % B | 流量 (mL/min) |
|---|---|---|
| 0 | 20 | 0.3 |
| 0.5 | 20 | 0.3 |
| 8.0 | 100 | 0.3 |
| 10.0 | 100 | 0.3 |
| 10.01 | 20 | 0.5 |
| 13.0 | 終了 | |

| | |
|---|---|
| ポストラン: | 4 分 |
| 合計サイクル時間: | 17 分 |

**GC 条件**

| | |
|---|---|
| 注入口: | スプリットレス |
| 注入口ライナ: | ヘリックスダブルテーパ、不活性処理済 (部品番号 5188-5398) |
| キャリアガス: | ヘリウム |
| 注入口圧力: | 実行時 19.6 psi (コンスタントプレッシャーモード)、<br>バックフラッシュ時 1.0 psi |
| 注入口温度: | 250 °C |
| 注入量: | 1.0 µL |
| スプリットベントの: パージ流量 | 0.75 分で 30 mL/min |
| オーブン温度プログラム: | 70 °C (1 分) ～ 50 °C/min ～ 150 °C (0 分) ～ 6 °C/min ～ 200 °C (0 分) ～ 16 °C/min ～ 280 °C (6 分) |
| ポストラン: | 3 分 |
| キャピラリ・フロー・テクノロジー: | Purged Ultimate ユニオン (部品番号 G3186B) – 分析カラムと注入口のバックフラッシュに使用。 |
| Aux EPC ガス: | Purged Ultimate ユニオンに配管されたヘリウム |
| Aux EPC 圧力: | 実行時 4.0 psi、<br>バックフラッシュ時 80.0 psi |
| カラム: | Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 15 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI) |
| 接続部: | 注入口と Purged Ultimate ユニオンの間 (部品番号 G3186B) |
| リストリクタ: | 65 cm × 0.15 mm、<br>0.15 µm DB-5 ms ウルトライナート |
| 接続部: | Purged Ultimate ユニオンと MSD の間 |

LC/MS/MS における MS/MS および GC/MS における MS の分析対象物に関連する機器取り込みデータについては、以前のアジレントの論文に記載の取り込みデータの表を参照してください。[4、11]

## サンプル調製

サンプル調整手順には、サンプル粉砕、抽出/分離、および分散 SPE クリーンアップなどがあります。ホウレン草で用いている QuEChERS メソッドは、分散 SPE の手順にトルエンの追加が含まれている点を除き、以前のアプリケーションノート [4、5] で詳しく解説したメソッドと類似しています。

冷凍して刻んだ有機ホウレン草を十分に均質化します。15 g (± 0.1 g) の均質化したサンプルを 50 mL 遠心分離管に入れます。必要に応じてサンプルに適切な QC スパイク溶液 (100 µL) を添加し、続いて 100 µL の IS スパイク溶液 (15 µg/mL の TPP) を添加します。サンプルを 30 秒攪拌した後、15 mL の 1 % HAc を含む ACN 溶液を各試験管に追加します。Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC 抽出塩類パケット (部品番号 5982-5755) を各試験管に直接追加します。サンプルの試験管を固く密封して、1 分間手で強く振とうします。試験管を 4000 rpm で 5 分間遠心分離します。

遠心分離後の上部層 (アセトニトリル層) を 1 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS 分散 SPE の 2 mL 試験管 (部品番号 5982-5222) に、または 8 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS 分散 SPE の 15 mL 試験管 (部品番号 5982-5258) に移します。2 mL の試験管には、50 mg の PSA、50 mg の GCB、および 150 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。また、15 mL の試験管には、400 mg の PSA、400 mg の GCB、および 1200 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。続いて、375 µL のトルエンを 2 mL の試験管に加え、3 mL のトルエンを 15 mL の試験管に加えます。試験管に固くキャップをし、1 分間攪拌します。その後、2 mL の試験管は、微量遠心分離機を使用して、13,000 rpm で 2 分間遠心分離します。15 mL の試験管は、通常の遠心分離機を使用して、4,000 rpm で 5 分間遠心分離します。825 µL の抽出液を 15 mL の遠心分離管に移し、$N_2$ フローにより乾燥させます。0.1 % のギ酸を含む 600 µL の ACN 溶液でサンプルを再構成し、攪拌し、超音波洗浄器にかけます。200 µL の抽出液をオートサンプラ用バイアルに移し、800 µL の水または適切な標準溶液 (水で希釈したもの) を追加します。サンプルに栓をして十分に攪拌してから、LC/MS/MS 分析にかけます。GC/MS 分析用のサンプルについては、600 µL の再構成したサンプルをオートサンプラ用バイアルに直接移すか、または検量線の準備に使用します。

分散 SPE 手順に対するトルエンの影響を調べるため、オリジナルの分散 SPE クリーンアップ手順に続いて、もう 1 つの ACN 抽出液を分析しました。

図 1 は、オリジナルのメソッド (トルエンなし) および修正したメソッド (トルエンあり) に対応した分散 SPE 手順を示しています。

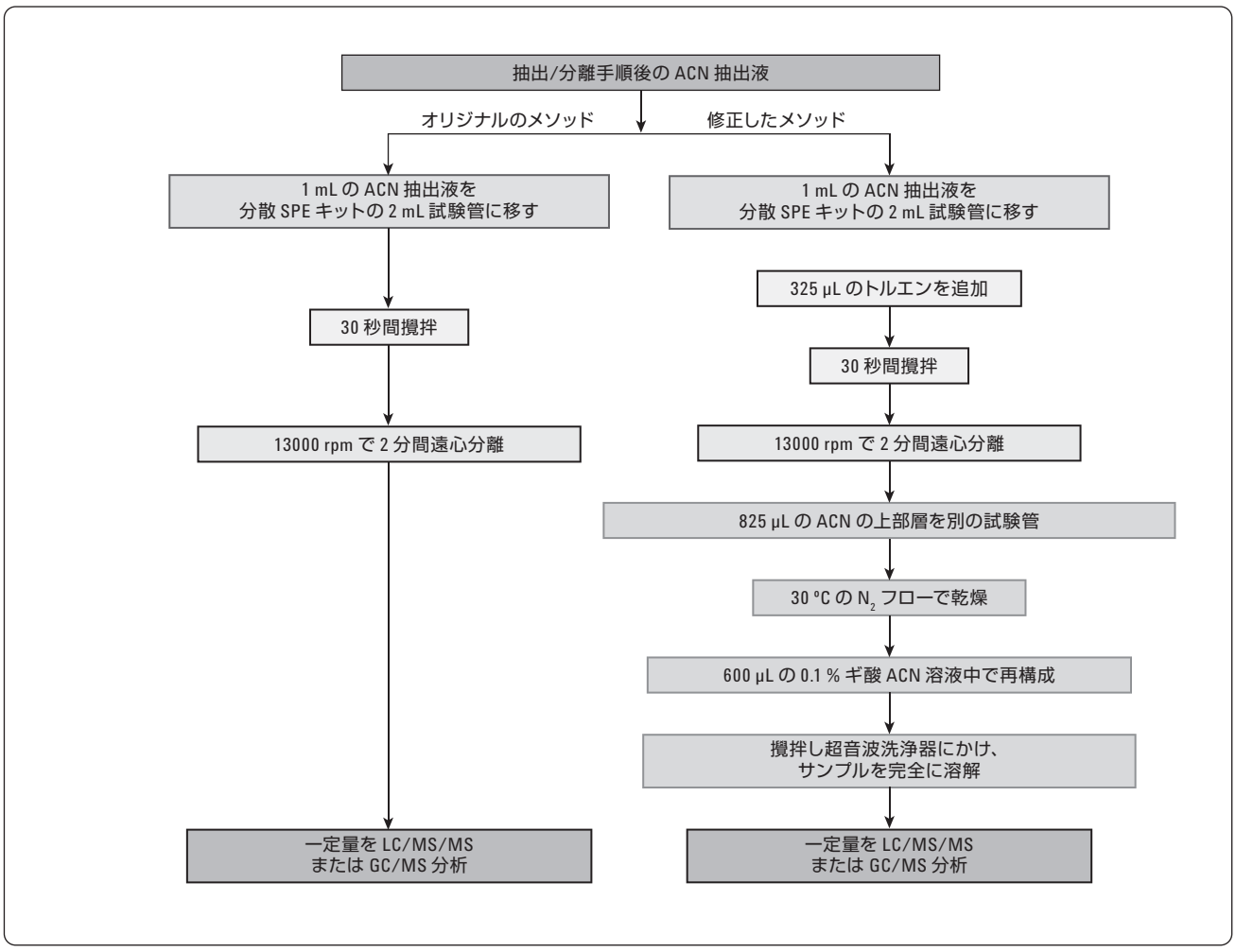


図 1. オリジナルのメソッド (トルエンなし) および修正したメソッド (トルエンあり) の分散 SPE 手順

## 結果と考察

### マトリックスのクリーンアップに対する影響

残留農薬分析用の QuEChERS の手法により、高速で簡単かつ安価な方法で非常に優れた結果が得られました。色素のある果実および野菜の場合、分散 SPE 試験管に GCB を加えると色素とステロールをかなり除去できます。これは、抽出物の色にはっきりと現れました。最初の抽出手順後のホウレン草 ACN 抽出液は濃い緑色でしたが、色素のある果実と野菜用の分散 SPE キット (GCB あり) を分散 SPE クリーンアップに使用した場合には、ACN の上部抽出層がきれいになり、ほぼ無色から非常に薄い黄色になりました。対照的に、一般的な果実と野菜用の分散 SPE キットを GCB なしで使用すると、上部層は濃い緑から黒のままでした。トルエンを追加して修正した分散 SPE 抽出液の場合は、攪拌と遠心分離の後、明るい黄色になりました。抽出液の色が濃くなるのは、トルエンの追加により、これらの色素分子に対する GCB の親和性が弱くなったか、GCB に吸着していた色素分子が逆抽出されたことを示しています。トルエンの追加により、最終抽出サンプル内の不純物の量が増えました。これは、図 2 に示すように、2 つのマトリックスブランクに対する UV クロマトグラム (λ = 254 nm) の比較から分かります。

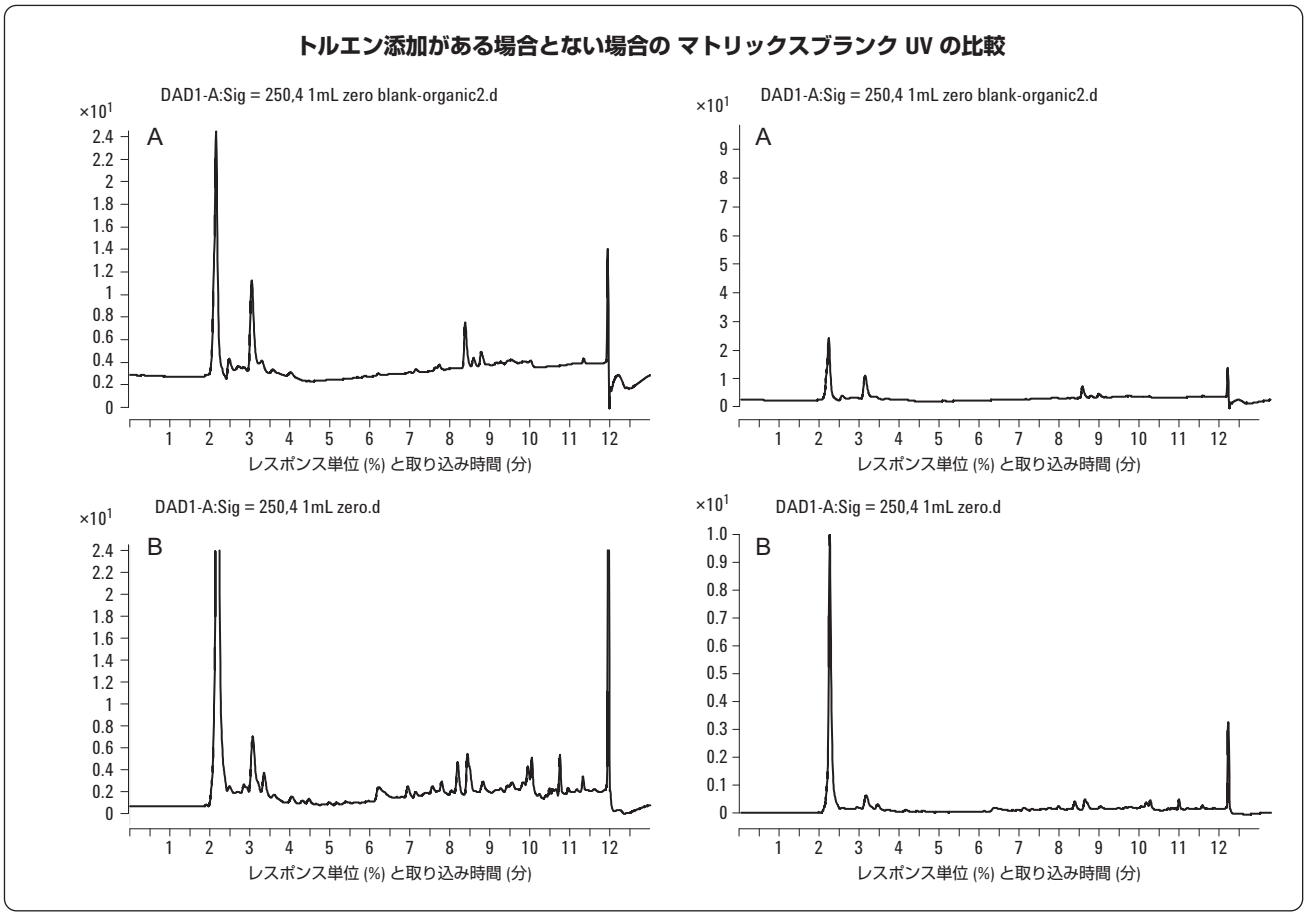


図 2. トルエンを含まないオリジナルのメソッドで得られたマトリックスブランク (A) とトルエンを含む修正したメソッドで得られたマトリックスブランク (B) の UV クロマトグラム (λ = 254 nm) の比較。小さなスケールで描いた左のクロマトグラムは、詳細を比較するもので、大きなスケールで描いた右のクロマトグラムは、大きな干渉物ピークを比較するもの。いずれの場合も、ブランク A と B のクロマトグラムに対して同じスケールを使用しています。

しかしながら、マトリックス不純物の増加は、LC/MS/MS または GC/MS の農薬分析に影響を与えませんでした。図 3 は、トルエンの添加を含む修正したメソッド (A) およびトルエンの添加を含まないオリジナルのメソッド (B) で処理したホウレン草マトリックスブランクの LC/MS/MS クロマトグラムを示しています。LC/MS/MS の感度の向上により、どちらのブランクサンプルでも同様にきれいなクロマトグラムが得られました。図 4 は、トルエンの添加を含む修正したメソッド (A) およびトルエンの添加を含まないオリジナルのメソッド (B) で処理したホウレン草マトリックスブランクの GC/MS クロマトグラムを示しています。2 つのブランククロマトグラムを比べると、多少違いはあるものの、よく似ていることが分かります。

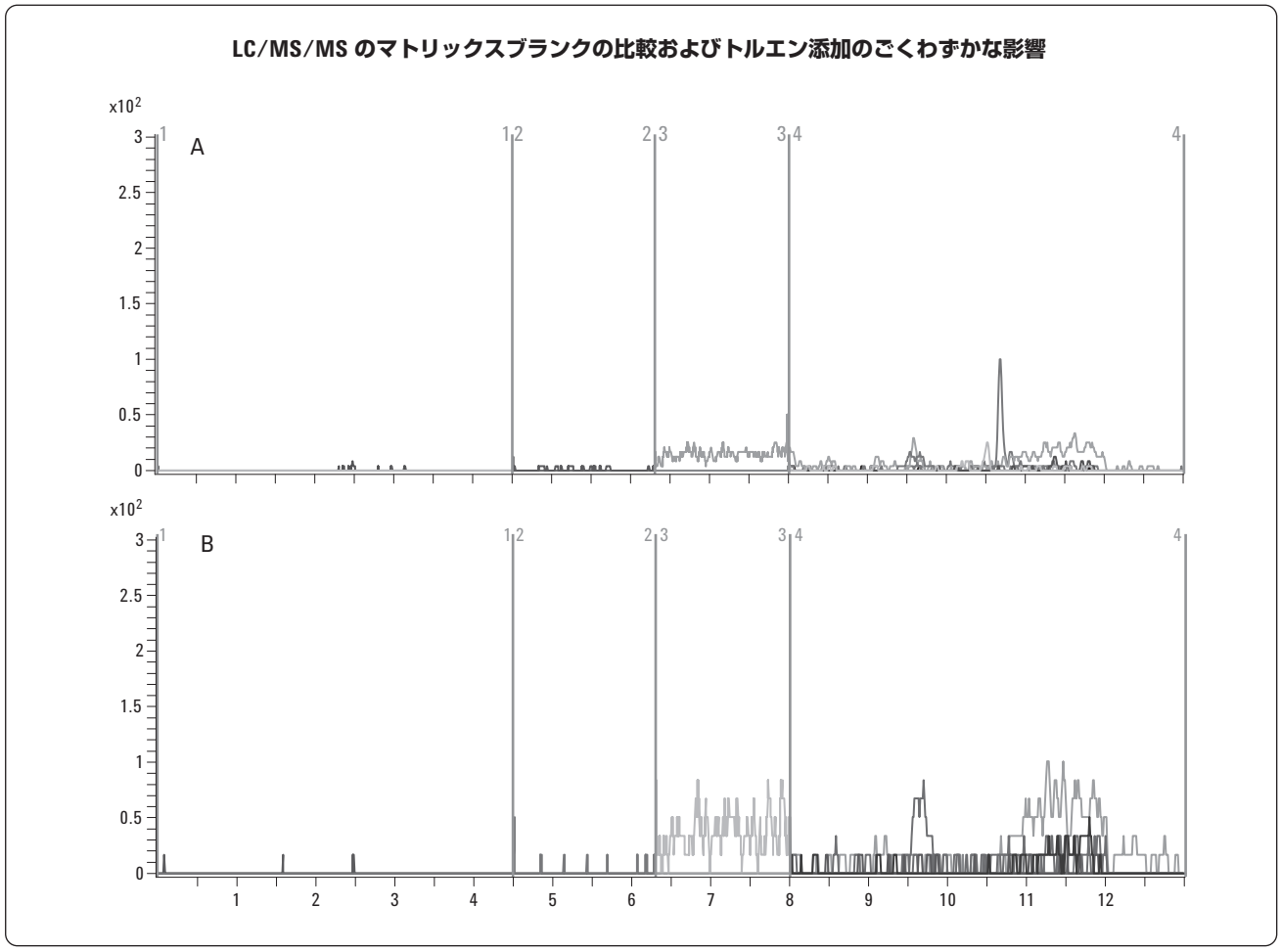


図 3. ホウレン草マトリックスブランクの LC/MS/MS クロマトグラム。A. 修正したメソッド (トルエンあり) で処理したホウレン草マトリックスブランク。B. オリジナルのメソッド (トルエンなし) で処理したホウレン草マトリックスブランク。

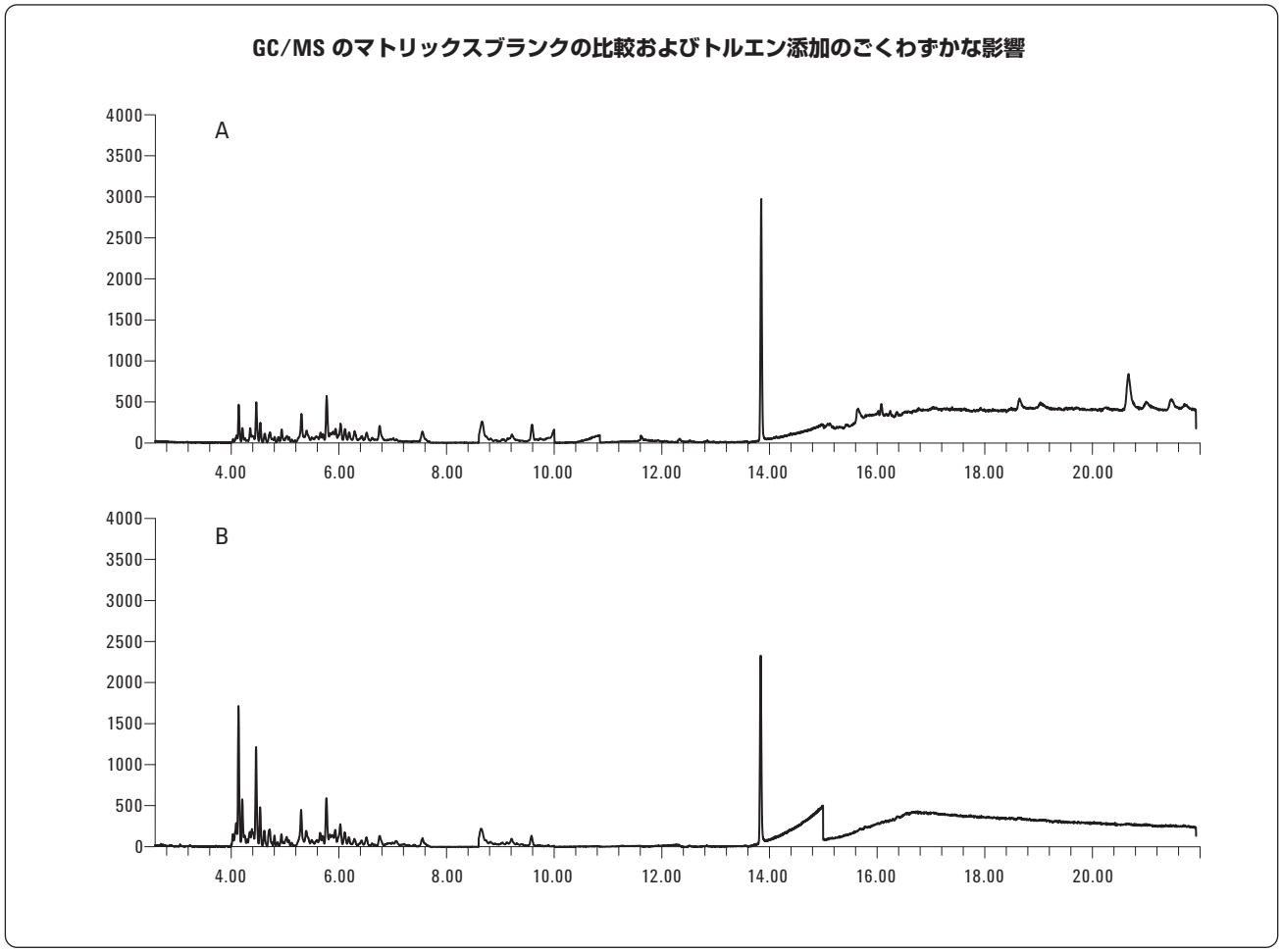


図 4.　ホウレン草マトリックスブランクの GC/MS クロマトグラム。A. 修正したメソッド (トルエンあり) で処理したホウレン草マトリックスブランク。B. オリジナルのメソッド (トルエンなし) で処理したホウレン草マトリックスブランク。

## 一部の農薬に対する著しい改善

特定の農薬に対して、トルエンの添加により著しい改善が見られました (回収率が 50 ～ 300 % 向上)。GCB は平面構造を持つ化合物を吸着するため、このメソッドは、平面構造を持つ化合物を含む農薬の回収率が非常に悪く (20 ～ 60 %)、精度も落ちます (>14 % RSD)。オリジナルのメソッドを使用した場合に問題となるこのような農薬には、カルベンダジム、チアベンダゾール、ピメトロジン、シプロジニル、クロロタロニル、クマホス、ジクロロベンゾフェノン、およびフォルペットなどがあります。最初の 4 つの農薬は LC/MS/MS で分析し、その他の 4 つの農薬は GC/MS で分析しました。

トルエンの最適な添加量は、同じ濃度でスパイク添加して、バッファ入り塩類抽出を施したホウレン草サンプルにより決定しました。8 mL の ACN 抽出液を 15 mL の分散試験管に移します。異なる量のトルエンを 8:1、8:2、および 8:3 (ACN 抽出液/トルエン、n = 3) の比率で追加します。比較のため、トルエンを添加していないサンプルも分析します。最終サンプルを LC/MS/MS で分析し、分析対象物のレスポンス (分析対象物のピーク面積/IS のピーク面積) の平均でレスポンスを比較します。図 5 に示すように、トルエンを追加した場合、分析対象物のレスポンスが 200 ～ 300 % 向上するので、抽出効率が向上することが分かります。一般に、トルエンの追加量を増やすと、得られるレスポンスが大きくなります。そのため、LC/MS/MS と GC/MS のどちらの実験でも 8:3 の比率でトルエンを追加することを選択しました。この比率は、Schenck が推奨している 3:1 の ACN/toluene の比率に近い値です。[7]

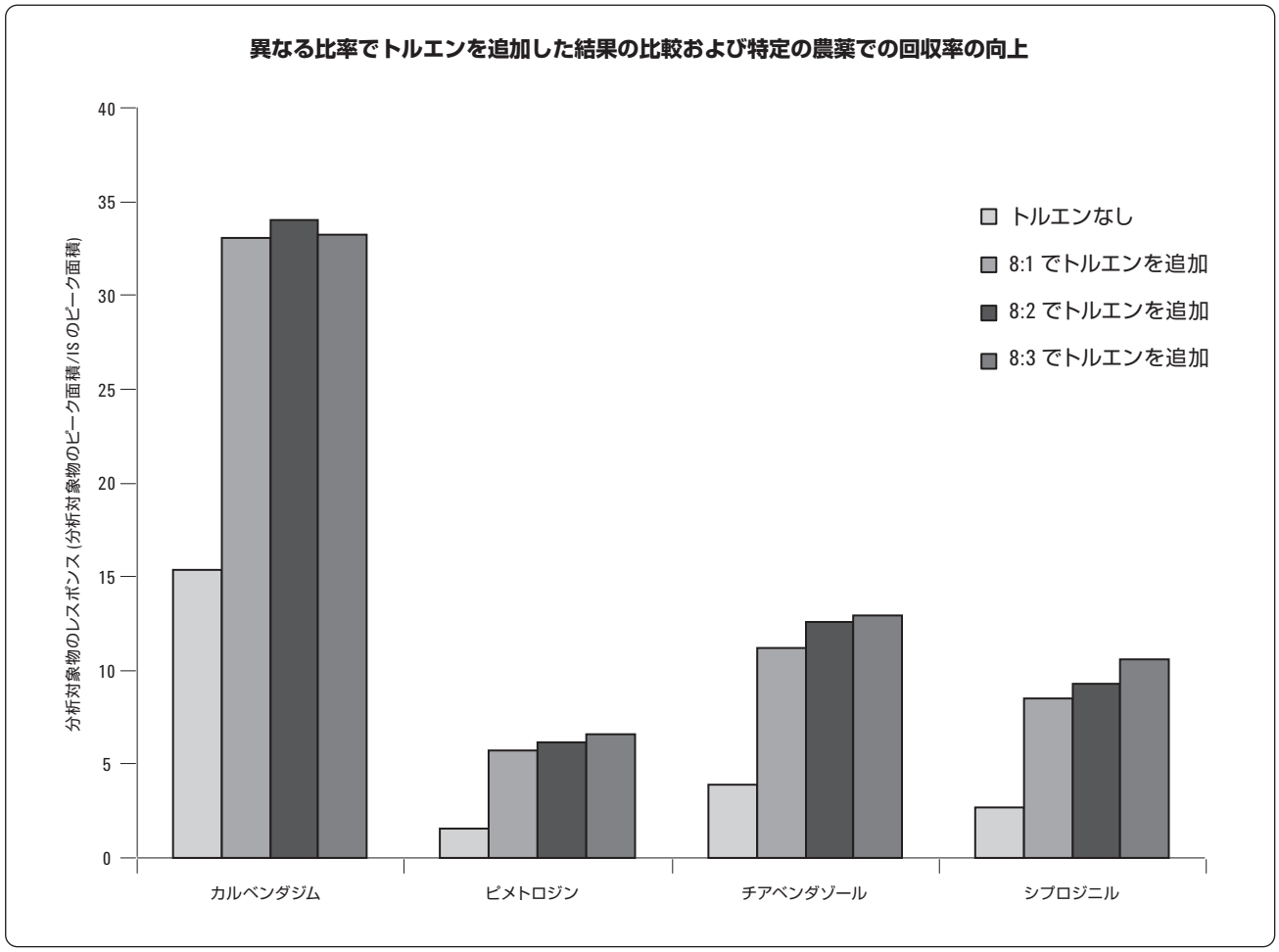


図 5. 異なるトルエン追加量での結果の比較。1 番目のカラム : トルエン追加なしの場合の結果。2 番目のカラム :8:1 (ACN 抽出液/トルエン) の比率でトルエン追加した場合の結果。3 番目のカラム :8:2 の比率でトルエン追加した場合の結果。4 番目のカラム:8:3 の比率でトルエン追加した場合の結果。

また、トルエンの追加に関して、2 つの異なるサイズの分散 SPE (1 mL および 8 mL) を比較しました。8:3 の比率に従い、3 mL のトルエンを 8 mL の試験管に加え、375 µL のトルエンを 1 mL の試験管に加えます。修正したメソッドで得られた結果をオリジナルのメソッドの結果と比較しました。図 6 に示したように、どちらの分散 SPE 量でも修正したメソッドを使用すると、農薬の回収率が 200 ～ 300 % 向上し精度も十分に改善します。1 mL の分散 SPE では、特にピメトロジンとチアベンダゾールの場合に、8 mL の分散 SPE に比べ回収率が多少大きくなります。1 つのサンプルをバッファ入り抽出キットと分離手順で処理すると、約 14 mL の ACN 抽出液が得られました。これは、オリジナルのメソッドと修正したメソッドの両方で同時に 1 mL の分散 SPE を実行するのに十分な量です。さらに、より少量のトルエンが必要となります。そのため、抽出の難しい農薬に対しては、1 mL の分散 SPE キットを修正したメソッドと共に使用することを推奨します。これにより、抽出作業をもう 1 度行う必要がなくなるため、分析時間と作業量を減らし、サンプルと溶媒の使用量を節約できます。

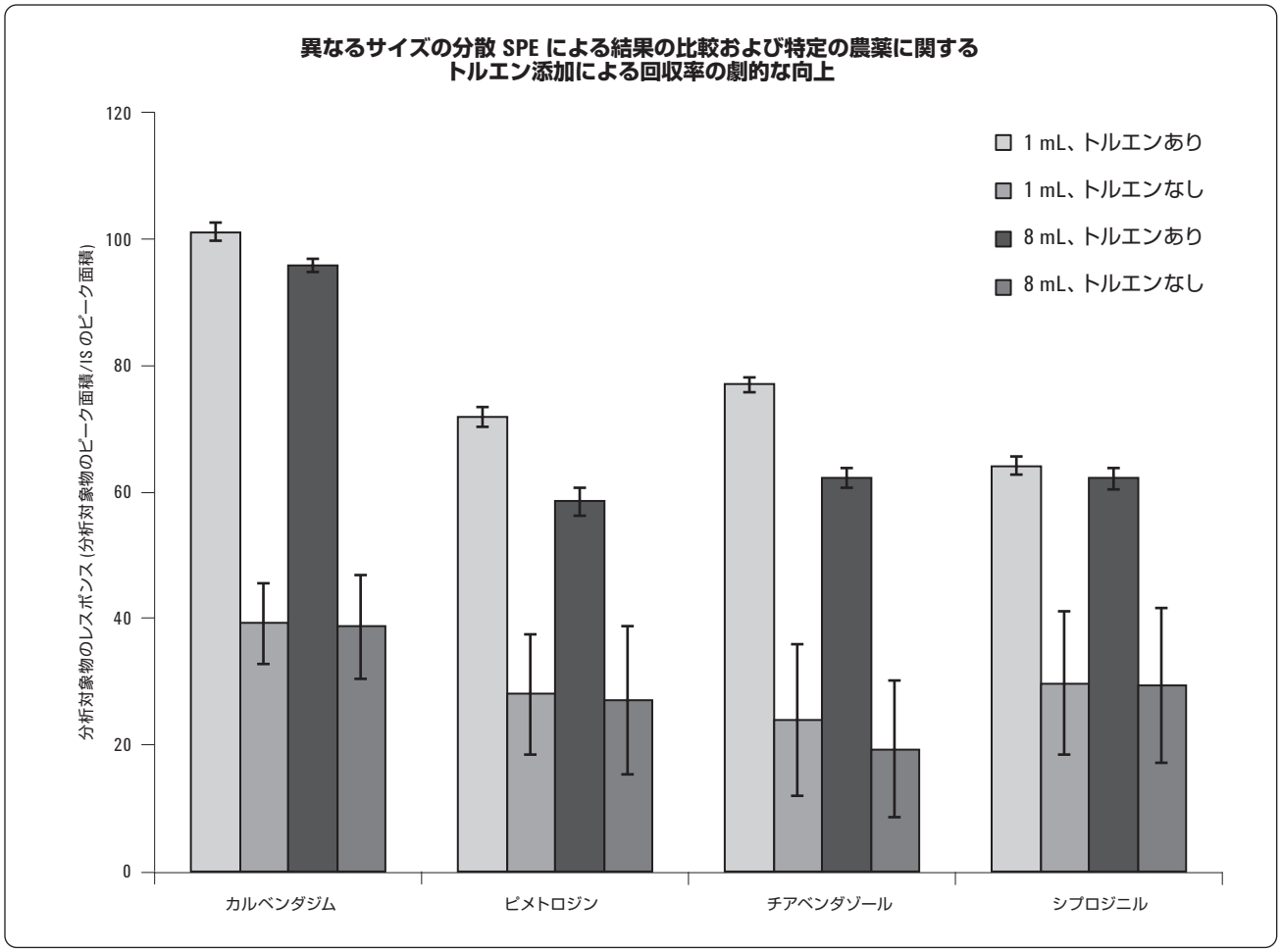


図 6.　修正したメソッド (トルエンあり) およびオリジナルのメソッド (トルエンなし) の場合の 1 mL および 8 mL の分散 SPE の結果の比較。

## 他の農薬に対する影響

他の農薬に対するトルエン添加の影響を観察し、その結果を基に、これらの農薬を 3 つのグループに分類しました。1 番目の農薬のグループは、オリジナルのメソッドでも修正したメソッドでも得られる回収率および精度が同じものです。2 番目の農薬のグループは、トルエンを追加すると、回収率が 10 ～ 15 % 未満となる一方、精度は許容範囲となるものです。3 番目のグループに含まれる農薬は、LC/MS/MS または GC/MS によりスクリーニングされる 34 種類の農薬のうちジクロルボスのみです。ジクロルボスの場合、トルエン添加は悪影響を与え、回収率が大きく下がり、精度も許容範囲外になります。一般に、このようなマイナスの影響は、LC で分析可能な農薬よりも GC で分析可能な農薬で多く観察されるので、修正されたメソッドの乾燥手順と関連する可能性があります。

表 1 は、代表的な農薬についての分散 SPE 分析におけるトルエン添加の影響をまとめたものです。

表 1.　トルエン添加を実施した場合の修正されたメソッドによる分散 SPE 特定の農薬への影響

| | オリジナルのメソッド (トルエンなし) | | 修正したメソッド (トルエンあり) | | 修正したメソッド | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 分析対象物 | 回収率 | RSD (n=6) | 回収率 | RSD (n=6) | による影響 | 検出方法 |
| カルベンダジム | 38.9 | 14.6 | 98.5 | 2.5 | ポジティブ | LC/MS/MS |
| チアベンダゾール | 21.8 | 19.7 | 69.7 | 2.7 | ポジティブ | LC/MS/MS |
| ピメトロジン | 27.6 | 21.2 | 65.2 | 3.7 | ポジティブ | LC/MS/MS |
| シプロジニル | 29.6 | 23.4 | 63.1 | 3.2 | ポジティブ | LC/MS/MS |
| クロロタロニル | 21.1 | 16.4 | 47.3 | 5.9 | ポジティブ | GC/MS |
| クマホス | 30.1 | 24.0 | 87.9 | 6.1 | ポジティブ | GC/MS |
| ジクロロベンゾフェノン | 53.7 | 4.5 | 77.7 | 6.1 | ポジティブ | GC/MS |
| フォルペット | 62.0 | 14.6 | 88.2 | 6.3 | ポジティブ | GC/MS |
| ジクロルボス | 88.8 | 6.0 | 20.4 | 89.8 | 非常にネガティブ | GC/MS |
| σ-フェニルフェノール | 88.6 | 4.6 | 73.7 | 7.4 | わずかにネガティブ | GC/MS |
| ダイアジノン | 94.9 | 5.9 | 81.3 | 4.0 | わずかにネガティブ | GC/MS |
| クロルデン | 103.9 | 4.5 | 101.3 | 4.5 | なし | GC/MS |
| ペルメスリン | 81.4 | 7.2 | 83.3 | 5.1 | なし | GC/MS |
| アセフェート | 95.5 | 5.6 | 99.8 | 4.7 | なし | LC/MS/MS |
| カルバリル | 108.0 | 2.5 | 109.1 | 1.9 | なし | LC/MS/MS |
| プロポクスル | 97.0 | 3.1 | 96.7 | 2.5 | なし | LC/MS/MS |

## 結論

本アプリケーションノートでは、Agilent サンプリーク AOAC バッファ入り抽出キットと色素のある果実および野菜用の サンプリーク AOAC 分散 SPE キットを使用して、AOAC QuEChERS メソッドにおけるトルエン添加の影響について議論しました。トルエンを 8:3 (ACN 抽出物/トルエン) の比率で分散 SPE 手順に追加すると、平面構造を持つ農薬の回収率が 50 ～ 300 % 向上し、精度も改善します。トルエンの添加により、マトリックス不純物の導入量が増え、特定の農薬で回収率が減少するマイナスの効果が発生する場合もあります。そのため、修正されたメソッドは、オリジナルのメソッドとそのまま置き換えられるわけではありません。そのため、この手法は色素を多く含むマトリックスを分析する際に、GCB の影響を受ける農薬に対する 1 つのオプションです。また、サンプル量を確保するために抽出作業を最初から繰り返す必要はありません。色素のある果実と野菜用の Agilent サンプリーク 2 mL 分散 SPE キットを使用すると、最初のバッファあり抽出キットの手順の後、ACN 抽出液をオリジナルの AOAC メソッドと、修正した AOAC メソッドの両方で同時に処理できる量のサンプルを確保できるので、余分なサンプル調整が不要になり、溶媒の使用量を減らせます。オリジナルのメソッドと修正したメソッドの結果を組み合わせると非常に素晴らしい結果が得られ、色素を含む果実や野菜に含まれる農薬を分析する際、オリジナルのメソッドよりも多様な複数クラスの農薬を分析対象にできます。

## 参考文献


1. Anastassiades M., Lehotay S.J.; Fast and Easy Multiresidue Method Employment Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 2003, 86, 412-431.
2. Lehotay S.J., et al; Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables, J. AOAC Int., 2005, 88, 615-629.
3. Lehotay S.J., et. al.; Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study, J. AOAC Int., 2007, 90, 485-520.
4. L. Zhao, D. Schultz, "Evaluation of the QuEChERS AOAC Sample Preparation Kit for the Analysis of Pesticide Residues in Apples with LC/MS/MS Detection," Agilent Technologies publication 5990-3937EN.
5. L. Zhao, D. Schultz, J. Stevens,「Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC キットを使用した GC/MS によるリンゴ中の残留農薬分析」、アジレント資料番号 5990-4068JAJP.
6. S. J. Lehotay, "Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Approach for Determining Pesticide Residues," Methods in Biotechnology, Vol. 19, Pesticide Protocols, Edited by Martínez Vidal J.L. and Garrido Frenich A., Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2006.
7. F. J. Schenck, J. W. Wong, "Determination of Pesticides in Food of Vegetal Origin, Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples, Chapter 6, edited by J. L. Tadeo, CRC Press Inc., Boca Raton, FL, 2008.
8. G. F. Pang, et al.; "Simultaneous Determination of 446 Pesticide Residues in Fruits and Vegetables by Three Cartridge Solid Phase Extraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry," J. AOAC Int., 2005, 89, 740-771.
9. M. Okihashi, et al., "Rapid Method for the Determination of 180 Pesticide Residues in Foods by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Flame Photometric Detection," J. Pestic. Sci., 2005, 30, 368-377.
10. R. S. Sheridan, and J. R. Meola, "Analysis of Pesticide Residues in Fruits, Vegetables and Milk by Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry," J. AOAC Int., 1999, 82, 982.
11. L. Zhao, P. L. Wylie, J. Stevens,「Agilent サンプリーク QuEChERS EN キットを使用した GC/MS によるリンゴ中の残留農薬分析」、アジレント資料番号 5990-4073JAJP.


## 詳細情報

アジレントの製品およびサービスの詳細は、弊社ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published in Japan
August 6, 2009
5990-4247JAJP

Agilent Technologies